

# 유기염소화합물인 DDT, PCB-153 및 TCDD에 *in vitro* 노출시킨 명주조개 마이크로솜의 CYP 및 EROD 활성 반응

전중균\* · 이미희 · 이지선 · 이경선<sup>1</sup> · 심원준<sup>2</sup> · 신영범<sup>2</sup> · 이수형<sup>2</sup>

강릉대학교 해양생명공학부/동해안해양생물자원연구센터 (EMBRC),  
<sup>1</sup>日本國 長崎大學 海洋資源教育研究센터, <sup>2</sup>한국해양연구원 해양환경기후연구본부

## *In vitro* Response of Cytochrome P450 (CYP) and EROD Activity in Bivalve (*Coelomactra antiquata*) by DDT, PCB-153 and TCDD

Joong-Kyun Jeon, Mee-Hee Lee, Ji-Seon Lee, Kyoung-Seon Lee<sup>1</sup>,  
Won-Joon Shim<sup>2</sup>, Yeong-Beom Shin<sup>2</sup> and Soo-Hyung Lee<sup>2</sup>

EMBRC, Kangnung Nat'l University, Gangneung 210-702 Korea

<sup>1</sup>Marine Research Institute, Nagasaki University, Nagasaki, Japan

<sup>2</sup>Korea Ocean Research & Development Institute, Ansan 425-170 Korea

**Abstract** - The effect of xenobiotics on cytochrome P450 (CYP) and 7-ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) in hepatopancreatic microsome of surf clam, *Coelomactra antiquata*, were investigated. The microsome isolated from the digestive gland of the surf clam, collected from the east coast of Korea, was *in vitro* exposed to *p,p*-DDT (0.1, 0.4 and 1.0 mM) for 30 min and 2, 3, 7, 8-TCDD (0.01, 0.04 and 0.1 ppb) and PCB-153 (0.01, 0.04 and 0.1 ppb) for 7 hr. In the case of DDT exposure, the CYP content and EROD activity of 1.0 mM exposure group increased up to about 117% and 120% of the DMSO solvent control group after 10 min. exposure, respectively. After 2 hr exposure of TCDD, the CYP content and EROD activity were also induced to the range of 103~110% and 121~139%, respectively. The PCB-153 exposure group showed 107~112% of CYP content and 129~140% of EROD activity after 2 hr exposure. Three test chemicals apparently induced CYP and EROD activity in the microsome of surf clam. The inducing potentials depend on the test chemicals.

**Key words** : clam, *Coelomactra antiquata*, cytochrome P450, EROD, DDT, TCDD, PCB-153

### 서 론

산업활동이 활발해지면서 필요에 의해 만들어진 각종

화합물은 사용 후 최종적으로 해양으로 흘러 들어가므로 이곳을 서식처로 하는 해양생물은 여러 가지로 영향을 받는다. 최근에는 이런 오염물질 가운데서도 정상적인 호르몬의 기능들을 대신하여 내분비계를 억제하거나 강화시키기도 하면서 생체의 발육과 생식 및 각종 기능에 중대한 영향을 미치는 내분비계 장애물질 (endocrine

\*Corresponding author: Joong-Kyun Jeon, Tel. 033-640-2412, Fax. 033-647-2410, E-mail. jkjeon@kangnung.ac.kr

disruptors)의 위험성이 점차 밝혀지면서 사회적으로도 큰 관심을 모으고 있다.

국내에서도 연안의 오염물질에 거동과 동태에 관한 여러 연구를 통해서 내분비계 장애물질이 상당히 광범위하게 분포하며 그 수준도 심각하다는 것이 차츰 밝혀지고 있다. 특히 전기절연체로 사용되었다가 지금은 사용이 금지된 폴리염화비페닐(PCB)이나 고염제 성분 제조의 부산물이며 소각장이나 담배연기에서 발견되는 다이옥신, 선박 페인트에 첨가되어 부착생물의 부착을 억제하는 유기주석화합물, 살충제나 제초제 등 농약에 이용된 DDT 등이 해양에서도 보편적으로 검출된다(한국해양연구소 1997, 1998; 한국해양연구원 2001).

해양에서 이들 화합물은 해류에 의해 신속하게 전파되며 먹이사슬을 통해 해양생물의 체내에 고농도로 농축되기 때문에 해양생물은 육상생물보다 더 큰 위험성에 노출되고 있으며 해양생물을 식량자원화 하는데도 적지 않은 장애요인으로 작용할 수가 있다. 국내에서는 이들 내분비계 장애물질의 해수 중 분포에 관한 연구는 이루어지고 있지만 해양생물에 미치는 영향에 관해서는 아직 연구가 그다지 활발하지는 않은 듯 하다(나 등 2000; Shim 2000; Shim *et al.* 2000; 강과 조 2001; 전 등 2002a, b). 하지만 국내 연안의 오염상황을 감안하면 이 분야의 연구는 시급히 다루어야 할 것이라 생각된다.

한편, 생체는 외인성 유해물질이 들어오면 이를 체외로 배설하기 위해 약물대사효소계(drug-metabolizing enzyme system)가 반응하여 생체변환을 일으킨다(Van Veld 1990). 이들 효소계는 대부분 세포의 미크로솜에 국재하며, 어류에서는 cytochrome P450 monooxygenase (phase I)와 포합효소(phase II)가 주로 관여한다고 알려져 있다(Chambers and Yarbrough 1976; Hansson *et al.* 1978). 혼합기능산화효소(mixed function oxidase, MFO)는 일련의 산화과정에 관여하여 비극성 화합물을 극성의 중간대사물로 변환시켜 체외로 배설이 잘 되도록 한다. 따라서 이들 효소의 반응을 조사하여 오염물질에 노출되었는지를 간접적으로 판단하기도 하는데 주로 cytochrome P450(CYP)과 ethoxyresorufin O-deethylase (EROD)가 쓰인다.

따라서 본 연구는 어패류에 미치는 내분비계 장애물질의 영향에 관한 기초자료를 확보하기 위해, 유기염소계 화합물인 DDT (1, 1-bis (4-chlorophenyl)-2, 2, 2-trichloroethane), PCB-153 (2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl)과 TCDD (2, 3, 7, 8-tetrachloro-dibenzo-*p*-dioxin)을 패류 증장선에 *in vitro*로 노출시키고 CYP와 EROD의 반응을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 노출시험

유기염소계 화합물로는 1, 1-bis (4-chlorophenyl)-2, 2, 2-trichloroethane (DDT; Sigma, U.S.A.), 2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl (PCB-153; Chem Service, U.S.A.)과 2, 3, 7, 8-tetrachloro-dibenzo-*p*-dioxin (TCDD; Ultra Scientific, U.S.A.)을 사용하였으며, 이들을 녹이는데 사용한 DMSO (dimethylsulfoxide)를 비롯하여 미크로솜 제조나 효소 측정에는 모두 Sigma사의 특급시약(AR)을 사용하였다.

### 2. 실험생물과 미크로솜의 제작

실험에는 2001년 7월에 강원도 양양군 남해항에서 구입한 명주조개 (*Coelomactra antiquata*; 5~10 cm, 25~50 g)를 사용하였다. 살아있는 것을 연구실로 옮겨 여과해수가 담긴 수조에서 충분히 통기하면서 1일 이상 안정화시킨 다음 조개의 내장낭 부위를 적출하여 불필요한 조직을 가위로 충분히 떼어내고 증장선(digestive gland) 조직의 일부를 사용하여 미크로솜을 만들었다. 즉, 증장선을 모아 인산완충액(0.1 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-20% glycerol, pH 7.4)으로 균질화 한 다음에 원심분리(8,000 × g, 20 min., 4°C)를 하고 상등액을 모아 초원심분리(100,000 × g, 120 min., 4°C)하여 원심관 하부에 가라앉은 침전물을 상기한 인산완충액(PH 7.4)으로 재현탁하였다. 이렇게 만든 미크로솜을 합쳐 균일하게 하고 여러 개의 microtube에 소량씩 분주하여 -150°C의 초저온냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 3. In vitro 배양

DMSO로 녹인 DDT, PCB-153 및 TCDD를 미크로솜에 일정한 농도가 되도록 첨가하여 30°C의 수조에서 배양하면서 일정 시간마다 약물대사효소를 측정하였다. 즉, PCB-153과 TCDD는 0.01, 0.04 및 0.1 ppb의 농도로 배양하였으며, DDT는 0.1, 0.4 및 1.0 mM의 농도로 배양하였다. 그리고 배양시간은 DDT의 경우 최대 30분까지로 하였고, TCDD와 PCB-153의 경우에는 예비실험에서 1시간까지는 별다른 변화가 일어나지 않았기에 배양시간을 늘려 최대 7시간까지 하였다. 한편, 비교를 위해서 미크로솜에 DMSO (2%)만을 첨가한 sham구를 설정하여 앞서와 같은 방식으로 배양하였다. 각 조건에서는 배양을 3번 실시하였고 그 평균값을 나타내었다.

4. 약물대사효소의 측정

CYP 농도의 측정은 Omura and Sato (1964)의 방법을 따랐으며, EROD 활성의 측정은 Burke and Mayer (1974)의 방법을 따랐다. 즉, CYP 농도는 마이크로솜에 환원제로 sodium dithionite를 소량 첨가한 다음에 CO 가스를 약 30초간 통기하고 나서 UV/VIS 분광광도계 (Shimadzu 1601-PC, Japan)를 사용하여 450과 490 nm의 차이스펙트럼 (difference spectrum)을 측정하였으며, 분자흡광계수는  $91 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ 으로 정량하였다. 한편, EROD 활성의 측정은 마이크로솜에 NADPH 재생계 용액(0.1 M 인산 완충액/glucose-6-phosphate/glucose-6-phosphate dehydrogenase/NADP<sup>+</sup>)을 첨가한 다음에 기질인 7-ethoxyresorufin을 넣고 일정시간 반응시켜 생성되는 resorufin의 농도를 형광분광계 (Shimadzu RF-5301PC, Japan)로 측정 (Ex. 550 nm, Em. 585 nm)하여 정량하였다. 그리고 마이크로솜의 단백질 농도는 Lowry *et al.* (1951)의 방법으로 정량하였다.

결 과

유기염소계 농약인 DDT와 명주조개의 마이크로솜을 30분간 배양하면서 CYP 함량과 EROD 활성의 경시적인 변화를 조사한 결과는 Figs. 1-2와 같으며, 각 화학물질을 첨가하기 전의 CYP 농도를 100%로 하여 각 시간별 배양구의 CYP 함량과 EROD 활성을 상대비(%)로 나타내었다.

DDT와 배양한 조개 마이크로솜의 CYP 함량(Fig. 1)을 보면, sham구에서는 처음  $0.54 \text{ nmol mg}^{-1}$ 의 농도이던

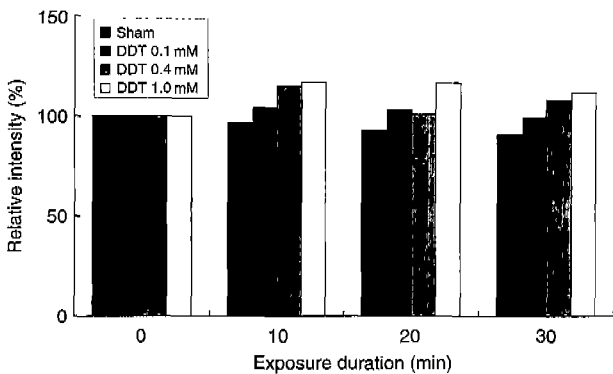


Fig. 1. Time-course *in vitro* interaction of CYP content of the digestive gland microsomes in bivalve, *Coelomacra antiquata*, with exposure to DDT. Data are the average value of triplicate experiments and expressed as percentage of 0 min incubation.

것이 30분 후에는  $0.49 \text{ nmol mg}^{-1}$  (91%)로 크게 변함이 없었고, 0.1 mM 배양구도 30분후에는 처음과 거의 차이가 없었다. 그러나 0.4 mM과 1.0 mM 배양구는 10분 후에 각각 115%와 117%로 높아졌고 30분 후에는 각각 108%와 112%가 되었다. EROD 활성의 변화(Fig. 2)에서도 sham구는 처음  $36.4 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ 이었다가 30분 배양 후에는  $37.1 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  (102%)로 그다지 변함이 없었으나, 0.1 mM과 0.4 mM 및 1.0 mM 배양구는 배양시간의 증가와 더불어 활성이 높아져서 30분 후에는 각각 117% ( $42.6 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ ), 120% ( $43.8 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ ) 및 120% ( $43.8 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ )가 되었다.

한편, TCDD와 배양 시에 CYP 함량과 EROD 활성의 경시적인 변화를 Figs. 3-4에 나타내었다. TCDD를 0.01,

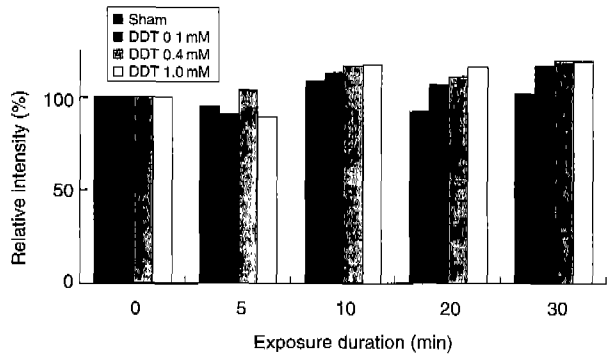


Fig. 2. Time-course *in vitro* interaction of EROD activity of the digestive gland microsomes in bivalve, *Coelomacra antiquata*, with exposure to DDT. Data are the average value of triplicate experiment and expressed as percentage of 0 min incubation.

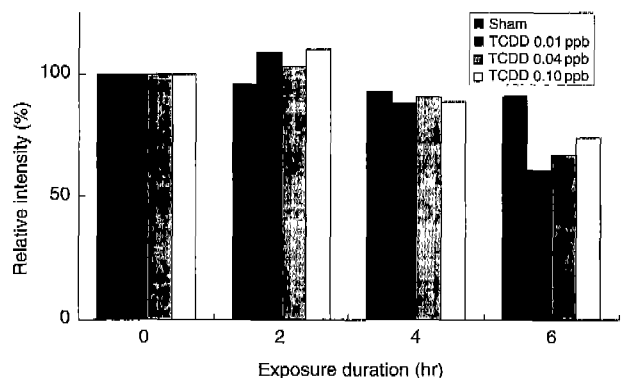
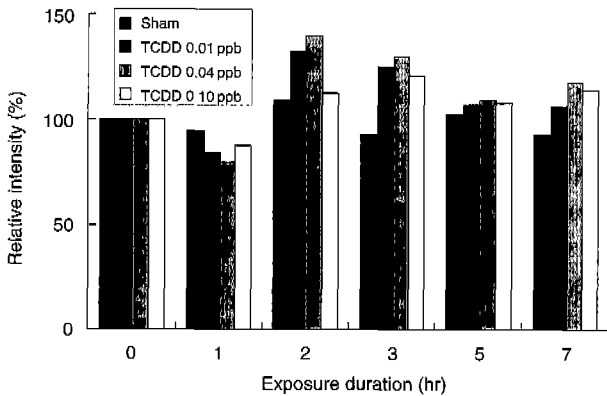
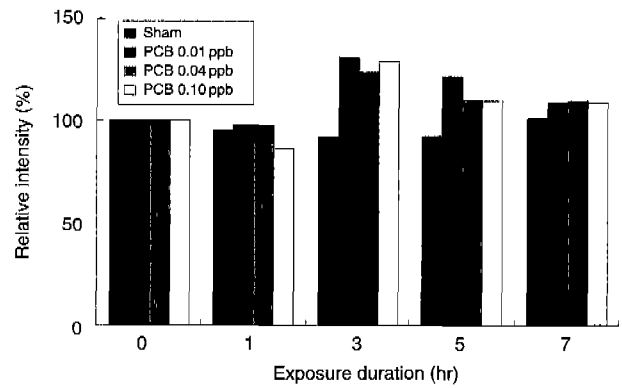


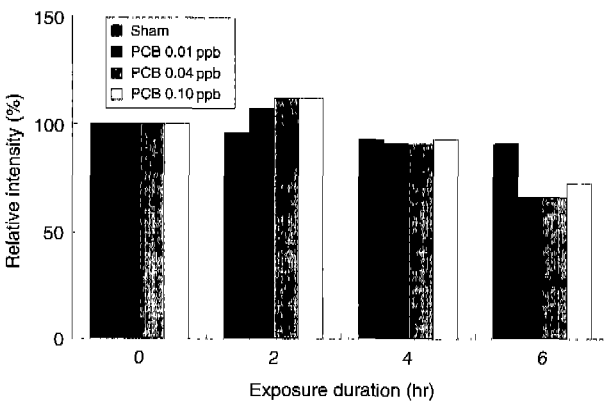
Fig. 3. Time-course *in vitro* interaction of CYP content of the digestive gland microsomes in bivalve, *Coelomacra antiquata*, with exposure to 2,3,7,8-TCDD. Data are the average value of triplicate experiments and expressed as percentage of 0 min incubation.



**Fig. 4.** Time-course *in vitro* interaction of EROD activity of the digestive gland microsomes in bivalve, *Coelomactra antiquata*, with exposure to 2, 3, 7, 8-TCDD. Data are the average value of triplicate experiments and expressed as percentage of 0 min incubation.



**Fig. 6.** Time-course *in vitro* interaction of EROD activity of the digestive gland microsomes in bivalve, *Coelomactra antiquata*, with exposure to PCB-153. Data are the average value of triplicate experiments and expressed as percentage of 0 min incubation.



**Fig. 5.** Time-course *in vitro* interaction of CYP content of the digestive gland microsomes in bivalve, *Coelomactra antiquata*, with exposure to PCB-153. Data are the average value of triplicate experiments and expressed as percentage of 0 min incubation.

CYP 함량과 EROD 활성의 변화를 조사한 것은 Figs. 5-6과 같다. Fig. 5에서 알 수 있듯이 세 배양구 모두 CYP 함량은 배양 2시간 후에 가장 컸으며 이후에는 감소하였는데, 즉, 2시간 후에 0.01 ppb 배양구는 107%, 0.04 ppb와 0.10 ppb 배양구는 모두 112%로 다소 증가하였으나 이후 배양시간이 늘어나면서 감소하여 6시간 후에는 각각 66%, 66%, 73%가 되었다. EROD 활성의 변화(Fig. 6)도 2시간 후에 가장 높아 0.01 ppb, 0.04 ppb 및 0.10 ppb 배양구에서는 각각 처음에 비해 129%, 140% 및 135%이었으나 이후에는 감소하여 각각 106%, 104%, 109% 수준이었다.

이처럼 본 실험에서 사용한 유기염소화합물인 DDT와 TCDD, PCB-153은 모두 명주조개 간체장 미크로솜에서 CYP 농도와 EROD 활성을 유도하였다.

고 찰

0.04 및 0.10 ppb가 되도록 미크로솜에 첨가하고 배양시 30분 이내에서는 CYP 농도와 EROD 활성이 차이를 보이지 않았다. 그래서 배양시간을 최대 6시간으로 늘려가면서 측정하였다. CYP 함량의 변화(Fig. 3)를 보면 모든 배양구는 2시간 후에 최대값을 보여 103~110%로 높아졌으나 이후에는 감소하는 경향을 보였고, EROD 활성의 변화(Fig. 4)도 CYP와 마찬가지로 모든 배양구는 2시간 후에 최고로 높은 수준을 보여 0.01 ppb 배양구는 132%, 0.04 ppb 배양구는 139%, 0.10 ppb 배양구는 121%로 높아졌으며 이후에는 모두 감소하였다.

그리고 PCB-153을 미크로솜에 첨가하여 배양하면서

DDT는 전 세계적으로 1940년대 후반부터 많이 쓰였던 농약이며, PCB류는 전기절연체로 많이 쓰였던 화합물이다. 두 화합물은 모두 소수성이고 물 속에서의 잔류기간이 수십년 정도로 지속성이 강해서 사용이 금지된 이후에도 여전히 저질 등에서 검출되는데, 우리나라에서도 강이나 바다의 저질에서 검출되고 있다(한국해양연구원 2001). PCB류는 이론적으로 209가지의 동속체(congeners)가 존재하는데 동속체의 활성은 서로 다르기 때문에 PCB류의 생물학적 활성은 동속체의 구성에 따라 달라진다고 알려져 있다(Gooch *et al.* 1989). 또한 폴리염화-p-다이옥신류(PCDDs)도 동속체가 75가지나 존

재할 수 있는데 특히 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)이 독성이나 유전독성의 면에서 관심을 모으고 있다 (Kime 1998).

이들 화합물이 사람이나 산업적인 가치가 있는 육상 동물에 미치는 영향에 관해서는 적지 않은 연구가 이루어졌지만, 해양생물에 관한 연구는 많지 않으며, 특히 패류에 대해서는 더욱 적은 실정이다. 이번엔 조사한 새 종류의 화학물질은 모두 소수성이라 해수에 쉽게 녹지는 않지만 수중에서는 다른 입자상의 부유물질과 함께 콜로이드 상태를 이루면서 부유하거나 또는 바닥에 가라앉아 분포한다. 따라서 저질을 서식장소로 하면서 수중의 부유물을 여과하여 섭취 (filter-feeding)하는 섭이 습성의 패류는 영향을 크게 입을 것이다 (Kannan 1999). 실제로 담치류 (*Mytilus edulis*)를 대상으로 PCB-77의 축적과 배설 (depuration)을 조사한 연구 (Moy and Walday 1997)에서도 노출기간 (14일) 중 담치는 화학물질을 계속 축적하였고 담치를 청정해수에 이식한 후에도 화학물질을 배설하는 현상이 관찰되지 않았다고 보고하였는데, 이로 미루어 패류는 PCB류에 의해 크게 영향을 받는다는 것을 짐작할 수가 있다. 한 생물체가 외인성 오염물질 (xenobiotics)에 노출되면 체내에서는 해독과정에 관여하는 MFO 효소계가 유도되기도 하고 또는 저해되기도 하므로 그 반응을 조사하여 영향의 강도를 짐작하기도 한다. MFO 효소계 중에서는 CYP 농도와 EROD 활성이 가장 일반적으로 조사되고 있으며, PCBs나 PAHs와 같은 오염물질의 조사에서도 널리 활용되고 있다 (Kime 1998).

본 실험에서는 유기염소계 농약인 DDT를 비롯하여 유기염소계 화합물질인 PCB-153과 TCDD를 명주조개 중장선의 미크로솜과 *in vitro*로 배양하면서 CYP 농도와 EROD 활성의 경시적인 변화를 조사하였는데 이들은 모두 CYP와 EROD 활성을 유도하였다.

경골어류를 DDT에 노출시키면 체내에서 DDT가 활성화되어 독성을 나타내기까지 걸리는 시간이 포유류보다 더 길었고 MFO 효소계도 충분히 유도되지 않는다고 보고되었다 (Weis 1974; Addison *et al.* 1977). 그러나 본 실험에서는 이와 달리 DDT와의 배양에서는 CYP와 EROD 활성이 분 단위의 짧은 시간에서도 유도되었는데, 이런 차이를 보이는 것은 대상생물이 패류인메다가 노출방법도 *in vitro*로 처리하였던 것도 이유일 것이라 생각한다.

그리고 본 실험에서 TCDD나 PCB-153에 노출한 경우에는 2시간 후에 CYP와 EROD 활성이 모두 최대를 보였다가 이후 점차 감소하는 경향을 보였는데 (Figs. 3-6), 이는 TCDD나 PCB-153에 의한 MFO 효소계의 유

도작용과 독성으로 인한 조직에서의 손상반응이 복합적으로 나타난 때문으로 사료된다.

TCDD는 어류의 초기발달과정에 민감하며 (Wisk and Cooper 1990a, b; Buchmann *et al.* 1993), 넙치에게 경구투여 할 경우에 종양 (tumors)을 일으키며 (Grinwis *et al.* 2000), 그리고 그 양과 상대독성은 TCDD의 종류에 따라 차이가 있다고 알려져 있다 (Hektön *et al.* 1994). 이처럼 어류에 대한 발생연구나 독성에 관한 연구결과는 보고된 바 있다. 비록 패류에서의 초기발달과정에 미치는 영향에 관해서는 알려진 바 없지만 독성은 어류에서와 마찬가지로 클 것이라 여겨진다.

한편, PCB류도 종류에 따라서 MFO 효소계 반응은 다르게 나타난다고 한다 (Gooch *et al.* 1989). 예를 들어, 어류인 scup (*Stenotomus chrysops*)에게 3, 3', 4, 4'-tetrachlorobiphenyl (PCB-77)을 복강주사하면 EROD와 CYP가 증가하였으나, 다른 종류인 PCB-105나 -118, -128, -138 등과 같은 5-염화물이나 6-염화물의 동속체들은 이들 단백질과 효소활성을 유도시키지 않았다고 한다. 또한 생물종에 따라서도 MFO 효소계 반응은 차이를 보이는 듯 한데, 즉, 패류인 홍합 (*M. galloprovincialis*)에 PCB-153을 *in vivo*로 노출시킨 경우에는 phase I (I상) 대사에 관여하는 CYP 함량과 NADPH-cytochrome P450 환원효소의 활성은 유도되지 않았지만 phase II (II상) 대사에 관여하는 글루타치온 농도와 glutathione S-transferase 활성은 유도되었다는 보고가 있고 (Michel *et al.* 1993), 어류인 무지개송어에게 PCB-153을 복강주사하였을 경우에는 4주 후에 간장의 EROD 활성이 증가하였다고 한다 (Foster *et al.* 1998). 본 실험에서 명주조개 미크로솜의 0.01 ppb 배양구는 배양 2시간 후에 107%로 증가하였고 0.04 및 0.10 ppb 배양구는 112%로 증가하였는데 노출농도와 노출방법 (*in vitro*)이 달랐기 때문에 앞의 홍합의 결과와는 다소 차이를 보이는 듯하다. 한편, 강과 조 (2001)는 틸라피아에 PCBs (Aroclor 1254)을 사료에 섞어 0.05~0.50 mg kg<sup>-1</sup>을 경구투여 하여 30일간 사육하였더니 간장의 CYP 함량과 EROD 활성이 증가하였다고 한다. 이런 결과들을 종합하여 고찰한다면, PCBs에 의한 해양생물의 MFO 효소계 반응은 시약 종류, 생물종 (어류, 패류)이나 노출 방법 (*in vivo*, *in vitro*, 복강주사, 경구투여 등), 노출 기간 (단기배양, 장기노출)에 따라 차이를 보이는 듯하다.

이처럼 본 연구에서는 세 가지의 할로겐화 방향족 탄화수소인 DDT, PCB-153 및 TCDD가 명주조개 미크로솜의 약물대사 효소계에 속하는 CYP 함량과 EROD 활성을 *in vitro*에서 유도시킨다는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 이들 화합물간의 유도 정도는 노출농도가 서로

달라 직접 비교할 수는 없었다.

오염된 해양환경에서는 여러 종류의 오염물질이 존재하기 때문에 이들로 인해 해양생물이 받는 영향은 복합적-상승적 또는 길항적-으로 나타날 것이다. 비록 PCBs와 TCDD는 약물대사 효소계를 유도시키므로 생물체로부터 오염물질을 제거하는 능력도 커지겠지만, DDT 등의 독성물질들은 효소 활성을 증가시키는 한편 화합물의 독성으로 인해 조직 형태가 손상을 입기도 한다. 따라서 여러 가지 오염물질이 함께 존재하는 복합독성의 피해는 단일성분에 의해 일어나는 피해보다 훨씬 클 것으로 예상된다. 그렇지만 이런 혼합물에 의해 생물에게서 일어나는 복합적인 반응에 관해서 알려진 바는 거의 없으므로 앞으로는 오염물질의 복합노출을 상정하여 생체반응에 관한 연구가 필요할 것이며, 현재 이에 관해서는 연구를 진행 중에 있다.

## 적 요

내분비계 장애물질이 해양생물에게 미치는 영향을 조사하기 위한 연구의 일환으로 우리나라 연안에서 보편적으로 분포하는 *p,p'*-DDT, 2, 3, 7, 8-TCDD 및 PCB-153을 대상으로 이들 화합물이 동해안산 명주조개의 마이크로솜 중 약물대사 효소계에 미치는 영향을 살펴보았다. 명주조개의 중장선으로 만든 마이크로솜에 상기한 화합물을 DMSO에 녹여 일정한 농도가 되도록 첨가하고 *p,p'*-DDT (0.1, 0.4 및 1.0 mM)는 30분까지 그리고 2, 3, 7, 8-TCDD (0.01, 0.04 및 0.1 ppb) 및 PCB-153 (0.01, 0.04 및 0.1 ppb)은 7시간까지 *in vitro*로 배양하면서 CYP 함량과 EROD 활성의 변화를 경시적으로 측정하였다. 그리고 용제인 DMSO만을 첨가한 마이크로솜으로 sham구를 설정하였다.

DDT와 배양한 경우, 0.4 및 1.0 mM 배양구의 CYP 농도는 노출 전에 비해 10분 후에 각각 115%와 117%로 높아졌고, EROD 활성도 120%로 증가하였다. TCDD와 배양한 경우, CYP 농도는 노출 전에 비해 2시간 후에 최대 (103~110%)가 되었고, EROD 활성도 2시간 후에 최대 (121~139%)가 되었다. PCB-153와 배양한 경우, 0.01, 0.04 및 0.10 ppb 배양구는 CYP 농도가 2시간 후에 각각 107%, 112% 및 112%로 최대가 되었고, EROD 활성도 각각 129%, 140% 및 135%로 최대가 되었다.

이것으로 세 화합물은 모두 중장선의 마이크로솜에서 CYP와 EROD 수준을 높이는 유도효과가 있음을 확인할 수 있었다.

## 사 사

이 논문은 1998년도 한국학술진흥재단의 지원(KRF-2001-001-H00065)에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- 강주찬, 조규석. 2001. PCBs 노출에 의한 틸라피아, *Oreochromis niloticus*의 간 cytochrome P450 효소계의 변화. 한국수산학회지. 34:194-198.
- 나오수, 오성립, 이영돈, 백혜자, 김형배. 2000. Bisphenol A가 송사리, *Oryzias latipes*의 수정란 부화과 어미의 산란에 미치는 영향. 한국수산학회지. 33:378-382.
- 전중균, 이미희, 김도진, 심원준, 오재룡, 이수형. 2002a. 유기주석화합물이 명주조개 (*Coelomacra antiquata*)의 약물대사효소계에 미치는 영향. 한국수산학회지. 35:185-190.
- 전중균, 이미희, 심원준, 이수형. 2002b. Cytochrome P450 유도제에 노출시킨 명주조개 (*Coelomacra antiquata*) 약물대사효소계의 *in vitro* 반응. 한국수산학회지. 35:179-184.
- 한국해양연구소. 1997. 유류 및 유독물질 오염이 수산자원에 미치는 영향에 관한 연구. BSPG 97609-00-1077-4. 411pp.
- 한국해양연구소. 1998. 수산물 중 PCBs 및 유기염소계 화합물 검사기술 연구. BSPG 97285-00-1091-4. 341pp.
- 한국해양연구원. 2001. 전국 연안의 지속성 유기오염물질 오염실태 조사연구. BSPM 00070-00-1336-3. 529pp.
- Addison RF, ME Zinck and DE Willis. 1977. Mixed function oxidase enzymes in trout (*Salvelinus fontinalis*) liver: absence of induction following feeding of *p,p'*-DDT or *p,p'*-DDE. Comp. Biochem. Physiol. 57C:39-43.
- Buchmann A, R Wannemacher, E Kulzer, DR Buhler and KW Bock. 1993. Immunohistochemical localization of the cytochrome P450 isozymes LMC2 and LM4B (CYP1A1) in 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-treated zebrafish (*Brachydanio rerio*). Toxicol. Appl. Pharmacol. 123:160-169.
- Burke MD and RT Mayer. 1974. Ethoxyresorufin: direct fluorometric assay of a microsomal O-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholanthrene. Drug Metab. Disp. 2:583-588.
- Chambers JE and JD Yarbrough. 1976. Xenobiotic biotransformation in fish. Comp. Biochem. Physiol. 55C:77-84.
- Foster EP, NH Vrolijk, TT Chen and LR Curtis. 1998. Interaction of 2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl with hepatic cytochrome P-4501A in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Toxicol. Environ. Health. 53:313-325.

- Gooch JW, AA Elskus, PJ Kloepper-Sams, ME Hahn and JJ Stegeman. 1989. Effects of ortho- and non-ortho substituted polychlorinated biphenyl congeners on the hepatic monooxygenase system in scup (*Stenotomus chrysops*). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 98:422-433.
- Grinwis GCM, HT Besselink, EJ van den Brandhof, AS Bulder, MY Engelsma, RV Kuiper, PW Wester, MA Vaal, AD Vethaak and JG Vos. 2000. Toxicity of TCDD in European flounder (*Platichthys flesus*) with emphasis on histopathology and cytochrome P450 1A induction in several organ systems. *Aquat. Toxicol.* 50:387-401.
- Hansson T, J Rafter and JA Gustafsson. 1978. A comparative study on the hepatic *in vitro* metabolism of 4-androstene-3, 17-dione in the hagfish (*Myxine glutinosa*), dogfish (*Squalus acanthias*), and the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocr.* 37:240-245.
- Hektón H, A Bernhoft, K Ingebrigtsen, JU Skaare and A Goksöyr. 1994. Response of hepatic xenobiotic metabolizing enzymes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and cod (*Gadus morhua*) to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (2, 3, 7, 8-TCDD). *Aquat. Toxicol.* 28:97-106.
- Kannan K. 1999. Clam-sediment accumulation factors for polychlorinated biphenyl congeners at a contaminated estuarine marsh. *Toxicol. Environ. Chem.* 68:159-167.
- Kime DE. 1998. Disruption of liver function. pp. 201-246. In *Endocrine Disruption in Fish* (DE Kime, ed.). Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Lowry OH, NJ Rosebrough, AL Farr and RJ Randall. 1951. Protein measurement Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.
- Michel XR, P Suteau, LW Robertson and JF Narbonne. 1993. Effects of benzo(a)pyrene, 3, 3',4, 4'-tetrachlorobiphenyl and 2, 2',4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl on the xenobiotic-metabolizing enzymes in the mussel (*Mytilus galloprovincialis*). *Aquat. Toxicol.* 27:335-344.
- Moy FE and M Walday. 1997. Accumulation and depuration of organic micro-pollutants in marine hard bottom organisms. *Mar. Pollut. Bull.* 33:56-63.
- Omura T and R Sato. 1964. The carbon-monoxide binding pigment of liver micromes. *J. Biol. Chem.* 239:2370-2378.
- Shim WJ. 2000. A study on the environmental chemistry and toxicology of organotins in the marine environment of Korea. A Ph.D Thesis. Seoul National University. 263pp.
- Shim WJ, SH Kahng, SH Hong, NS Kim, SK Kim and JH Shim. 2000. Imposex in the rock shell, *Thais clavigera*, as evidence of organotin contamination in the marine environment of Korea. *Mar. Environ. Res.* 49:435-451.
- Van Veld PA. 1990. Absorption and metabolism of dietary xenobiotics by the intestine of fish. *CRC Crit. Rev. Aquat. Sci.* 2:185-203.
- Weis P. 1974. Ultrastructural changes induced by low concentrations of DDT in the livers of the zebrafish and the guppy. *Chem. Biol. Interact.* 8:25-30.
- Wisk JD and KR Cooper. 1990a. Comparison of the toxicity of several polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzofuran in embryos of the Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere* 20:361-377.
- Wisk JD and KR Cooper. 1990b. The stage specific toxicity of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in embryos of the Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environ. Toxicol. Chem.* 9:1159-1169.

Manuscript Received: February 11, 2003

Revision Accepted: April 22, 2003

Responsible Editorial Member: Don Chan Choi  
(Yong-In Univ.)